

Informe Final

Proyecto Piloto de conservación y manejo de recursos genéticos forestales en la zona norte de Costa Rica

1

Escuela de Ingeniería Forestal

Investigador Responsable: Olman Murillo Gamboa

Otros investigadores: Yorleny Badilla Valverde
Fabiana Rojas Parajeles

Abril 2011

3. Título

Proyecto Piloto de conservación y manejo de recursos genéticos forestales en la zona norte de Costa Rica (Código del proyecto: 5402 1401 9501)

4. Autores y direcciones

Ing. Olman Murillo Gamboa, Ph.D. Escuela de Ingeniería Forestal (olmuga@yahoo.es)

Ing. Yorleny Badilla Valverde, B.Sc. Escuela de Ingeniería Forestal (yorlenybadilla@yahoo.es)

Ing. Fabiana Rojas Parajeles, B.Sc. Escuela de Ingeniería Forestal (fabi83@gmail.com)

Periodo de desarrollo del proyecto

Enero 2007 a Diciembre 2009

Prorrogado a Diciembre 2010

5. Tabla de contenido

3. Título	2
4. Autores y direcciones.....	2
6. Resumen.....	4
Lista de cuadros	5
7. Introducción	9
7.1 ¿Tamaño mínimo de población para garantizar su conservación?	11
7.2 Definición del problema:	12
7.3 Objetivos generales de la investigación	13
7.4. Objetivos específicos:	13
8. Metodología.....	14
9. Resultados y Discusión	18
10. Discusión y Conclusiones	33
11. Recomendaciones.....	33
12. Agradecimientos	34
13. Referencias	34
14. Apéndices	39

6. Resumen

Se colectó progenies de 12 árboles de camíbar (*Copaifera camibar*), 14 de tostado (*Sclerolobium costaricense*), 8 de titor (*Sacoglathis trichogyna*), 5 de cola de pavo (*Hymenolobium mesoamericanum*), 25 de cebo (*Vochysia guatemalensis*), 29 de almendro (*Dipteryx panamensis*) y 19 genotipos de pilón (*Hyeronima alchorneoides*) de poblaciones nativas de los cantones de San Carlos, Los Chiles, Sarapiquí y Guápiles, que se mantienen como colecciones vivas en el invernadero forestal de la sede del ITCR en San Carlos. Se establecieron ensayos de procedencia/progenie con las colecciones de almendro (en Santa Clara de San Carlos y en Rincón de Osa), cebo (en Santa Clara de San Carlos, en La Alegría de Siquirres y en Rincón de Osa) y de pilón (en Rincón de Osa y previsto para plantar en Santa Clara de San Carlos). Estos ensayos se basan en un diseño experimental que permite su posterior conversión y manejo como huerto semillero, de modo que se constituirán en colecciones valiosas de germoplasma *ex situ* para estas especies nativas. Para garantizar una conservación genética efectiva y confiable con las cuatro especies investigadas, es necesario la existencia de un Fragmento de Tamaño Mínimo de bosque remanente superior a las 900 ha para las especies titor, camíbar y tostado. En el caso de cola de pavo, el Tamaño del Fragmento deberá ser de al menos 2300 ha. Esta última especie es por tanto, la que se podría considerar bajo una amenaza potencial mayor. La Distancia Máxima de Apareamiento oscila entre los 350 m para el titor y el tostado, hasta 770 m en camíbar y 910 m para el cola de pavo. Las especies nativas tostado, titor, camíbar y cola de pavo, registran suficiente evidencia de que su grado de amenaza no es tan alto como se reporta en las publicaciones de Jiménez. En particular el tostado es una especie nativa que exhibe al menos tres poblaciones debidamente constituidas (Pocosol y Florencia dentro del cantón de San Carlos y Puerto Viejo dentro del cantón de Sarapiquí) y un robusto tamaño de población efectivo. Los datos de campo, su alta capacidad de producción de semilla y la cantidad de especímenes ubicados en campo, permiten concluir que el tostado no está en riesgo inminente de extinción. Por tanto, su grado de amenaza debería disminuir a una categoría de amenaza mucho menor o del todo inexistente.

Palabras clave

Conservación genética, forestal, especies nativas, especies amenazadas, ex situ, germoplasma

Lista de cuadros

Cuadro 1. Resumen ejecutivo "Proyecto Piloto de conservación y manejo de recursos genéticos forestales en la zona norte de Costa Rica" (5402 1401 9501), 2007-2009 con prórroga a diciembre 2010; Olman Murillo, Yorleny Badilla y Fabiana Rojas, Escuela de Ingeniería Forestal, Centro de Investigaciones en Integración Bosque Industria	6
Cuadro 2: Abundancia en bosques naturales de especies nativas de la zona norte de Costa Rica putativamente amenazadas.	19
Cuadro 3: Estimación de la Distancia Máxima de Apareamiento entre individuos en la población para cada una de las cuatro especies nativas investigadas.....	21
Cuadro 4: Cantidad de individuos estimados/por especie, presentes en los bosques naturales y potreros de la zona norte de Costa Rica, con base en sus valores de abundancia.	21
Cuadro 5: Análisis de las dimensiones mínimas del fragmento de bosque para sustentar una población efectiva mayor a 50 individuos ($N_e = 10\%$ de N), para cada una de las cuatro especies putativamente amenazadas de la zona norte.	23
Cuadro 6: Relación de colectas y número de individuos localizados en campo para cada una de las cuatro especies nativas amenazadas.....	25
Cuadro 7: Trabajos con AFLP's (marcadores genéticos) realizados con las cuatro especies nativas amenazadas	28

Lista de figuras

Figura 1. Ensayos de procedencias/progenie con las especies cebo y almendro establecidos en la sede del ITCR en Santa Clara, San Carlos.....	27
Figura 2. Ácidos nucleicos totales para muestras de titor y tostado: TTCR y TT = Titor; CT, FL y TPV = Tostado.....	29
Figura 3. Diseño de campo para el establecimiento <i>ex situ</i> de colecciones genéticas de especies forestales.....	32

Cuadro 1. Resumen ejecutivo "Proyecto Piloto de conservación y manejo de recursos genéticos forestales en la zona norte de Costa Rica" (5402 1401 9501), 2007-2009 con prórroga a diciembre 2010; Olman Murillo, Yorleny Badilla y Fabiana Rojas, Escuela de Ingeniería Forestal, Centro de Investigaciones en Integración Bosque Industria

Objetivo específico	Meta	Productos desarrollados	Porcentaje de logro y justificaciones
1. Explorar y documentar los recursos genéticos forestales amenazados y los de alto valor comercial, de la zona norte de Costa Rica.	1. Se localiza y estima la existencia de especímenes de las especies nativas titor (<i>Sacoglathis trichogyna</i>), camíbar (<i>Copaifera camibar</i>), cola de pavo (<i>Hymenolobium mesoamericanum</i>) y tostado (<i>Sclerolobium costaricense</i>) en la zona norte del país.	1. Se logró localizar y georeferenciar (en su mayoría) desde 8 individuos (camíbar) hasta más de 50 (tostado) en campo. Se elaboró un primer mapa con los especímenes georeferenciados.	1. <u>85% de logro</u> , debido a que el barrido en campo fue satisfactorio en buena parte de los cantones de Los Chiles y San Carlos, pero no se visitaron exhaustivamente sectores de la zona norte (distritos de Cutris y Pital, Río Cuarto, La Virgen) que podrían muy probablemente tener en pie especímenes de las especies putativamente amenazadas.
2. Determinar <i>in situ</i> el grado de amenaza de las especies forestales nativas de la zona norte del país, incluidas en la lista del MINAE de especies forestales amenazadas.	1. Se determina y analiza la abundancia en bosque natural de cada una de las cuatro especies investigadas. 2. Se estima para las cuatro especies investigadas, el área mínima de fragmento de bosque natural necesario para sustentar una población efectiva (N_e) mínima de 50 individuos	1. Se determinó el valor de abundancia de cada una de las cuatro especies putativamente amenazadas: Camíbar (0,51); titor (1,5 con 0,57 como el más bajo); cola de pavo (0,34, con 0,22 como el más bajo) y tostado (1,23, con 0,66 como el más bajo). 2. Se determinó para las cuatro especies, el tamaño mínimo de fragmento de bosque natural para sustentar una población de al menos 50 individuos, con base en el valor más bajo registrado de abundancia: 900 ha para	1. <u>95 % de logro</u> , debido a que no se logró consultar varios inventarios realizados por CODEFORSA en la zona de investigación, que podrían enriquecer los valores estimados de abundancia. 2. <u>90% de logro</u> , debido a que no se concluyó un análisis de tamaño de fragmentos de bosque nativo existente en la zona norte, que podría sustentar mejor las conclusiones del grado de amenaza real de estas especies. Sin embargo, dado que se conoce de la

	y su grado de amenaza real.	las especies camíbar, titor y tostado y 2300 ha para el cola de pavo. Esta última especie con el mayor grado de amenaza potencial.	existencia de varios bloques de bosque nativo de gran tamaño en la zona norte (Crucitas, Maquenque, La Selva y bosques bajo manejo de FUNDECOR), que superan las 2500 ha, fácilmente se puede concluir sobre la inexistencia de un grado de amenaza real para estas especies en la zona norte en estos momentos.
3. Desarrollar acciones de conservación y manejo de colecciones <i>ex situ</i> , de recursos genéticos forestales amenazados, así como de los de alto valor comercial de la zona norte de Costa Rica.	<p>1. Se colecta al menos 50 individuos de cada una de las cuatro especies amenazadas, así como de especies nativas de importancia económica, para establecer colecciones <i>ex situ</i> como fuentes de germoplasma.</p> <p>2. Se establece al menos un ensayo de procedencia/progenie con cada una de las especies nativas investigadas.</p> <p>3. Para cada una de las especies investigadas se logra utilizar</p>	<p>1. Se colecta y se mantiene en el invernadero forestal del ITCR en Sta. Clara 239 plantas de titor (12 familias, 2 procedencias), 375 especímenes de tostado (14 familias, 2 procedencias), 196 plantas de camíbar (8 familias, 2 procedencias), 33 progenies de cola de pavo (5 familias, 2 procedencias), 3000 plantas de almendro (29 familias, 3 procedencias), 3000 plantas de cebo (25 familias, 2 procedencias) y 2000 plantas de pilón (19 genotipos).</p> <p>2. Se establecen ensayos de procedencia/progenie de almendro (en Sta. Clara, ITCR y en Rincón de Osa); de cebo (en Sta. Clara, Osa y La Alegría de Siquirres); de pilón (en Osa y planeado para junio 2011 en Sta. Clara, ITCR); de titor, cola de pavo, camíbar y titor en junio 2011 (Sta. Clara, San Carlos).</p> <p>3. Se refinó el protocolo de propagación vegetativa de pilón y cebo. El pilón se logra establecer inclusive, en minijardines clonales temporales. No se</p>	<p>1. 85% de logro, debido a que, a pesar de que se colectaron más de 50 individuos por especie (excepto en cola de pavo con 33 plantas), el número de familias (árboles madre) es relativamente bajo para las cuatro especies putativamente amenazadas (de 5 a 12 familias). Sin embargo, este indicador fue ampliamente superado para las especies nativas de importancia económica (de 19 a 29 familias por especie y varios miles de plantas).</p> <p>2. 90% de logro, debido a que los ensayos de camíbar, titor, cola de pavo, tostado y pilón por establecerse en el campus del ITCR en Sta. Clara de San Carlos, se pospuso para el inicio de las lluvias del 2011, por razones de logística con la administración de la sede del ITCR. Los demás ensayos de almendro, cebo y pilón fueron debidamente establecidos en sitios seguros que permitirá su manejo y conversión futura en fuentes valiosas de germoplasma.</p>

	<p>eficientemente la técnica de propagación vegetativa.</p> <p>4. Se determina el protocolo de extracción de ADN, el protocolo de amplificación de ADN (PCR) y se determinan combinaciones de imprimadores con alto polimorfismo para las cuatro especies.</p>	<p>obtuvieron resultados satisfactorios con las demás especies investigadas.</p> <p>4. Se refinó el protocolo de extracción de ADN para las cuatro especies (100%) y el protocolo de amplificación (PCR) y mejores combinaciones de imprimadores (AFLP) para el camíbar y el cola de pavo (50%). Se validó el protocolo de microsatélites para el <i>Dipteryx panamensis</i>.</p> <p>No se determinó el grado de variabilidad genética dentro y entre familias incluidas en las colecciones de campo. Tampoco se pudo determinar el grado de autopolinización ni el grado de parentesco entre las familias recolectadas.</p>	<p>3. <u>Un 60% de logro</u>, debido a que no se logró obtener resultados satisfactorios de enraizamiento de miniestaquillas con las demás especies. Estas especies nativas presentan dificultades para su propagación vegetativa que requieren de mayores esfuerzos y tal vez, de cambios en la tecnología de propagación <i>in vivo</i>.</p> <p>4. <u>Un 30% de logro</u>, la incapacidad por maternidad de Fabiana Rojas y la imposibilidad de comprar equipo y terminar de instalar nuevo laboratorio de genética molecular en el CIIBI, impidieron el avance de esta meta del proyecto. En la actualidad se ha continuado trabajando con estas especies y se espera que durante el 2011 se completen los procedimientos de laboratorio para el análisis molecular de estas especies.</p>
<p>4. Sentar las bases tecnológicas-científicas de una organización de país para la conservación y manejo de los recursos genéticos forestales amenazados.</p>	<p>1. Se propone una guía práctica de acción para el rescate y manejo de especies forestales nativas amenazadas o de importancia económica.</p>	<p>1. Con base en lo aprendido y establecido en el proyecto, se plantean los pasos (estrategias de acción) necesarios para lograr con recursos limitados, el inicio de programas de conservación genética efectiva. El proyecto logra demostrar que si es posible establecer colecciones genéticas valiosas con base en principios simples y efectivos de propagación.</p>	<p>1. <u>Un 95% de logro</u>, debido a que no se han divulgado aún los resultados del proyecto.</p>

7. Introducción

Costa Rica ha logrado concretar a nivel político-institucional, un Plan Nacional de Recursos Genéticos (CONAGEBIO, 1999). La mayor parte de las responsabilidades recaen en las instituciones vigentes en este campo, entre las que se destacan la Comisión Nacional de Recursos Fitogenéticos (adscrita a la Oficina Nacional de Semillas) y el Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE). Sin embargo, en el modelo costarricense institucional, este tipo de funciones/ tareas son normalmente concebidas como un recargo más a su larga lista de responsabilidades, y no han logrado contar con recursos suficientes para tan siquiera iniciar con esta difícil tarea. Debe agregarse, que el personal técnico con que cuentan, normalmente no tiene la calificación necesaria para incursionar en campos nuevos, como lo es el caso del estudio y manejo de recursos genéticos.

Las nuevas corrientes en la exploración, documentación y utilización de recursos genéticos, así como las nuevas técnicas biotecnológicas, le exigen al país su pronta incorporación a la comunidad de países que han asumido su responsabilidad con sus propios recursos naturales (Murillo, en prensa). El Instituto Tecnológico de Costa Rica, a través de sus centros de investigación y comunidad de investigadores, ofrece las bases necesarias para dar inicio con una tarea de esta magnitud (Badilla *et al.*, 1999a; Badilla *et al.*, 1999b; Del Valle, 2001; Murillo *et al.*, 2001). La existencia de la Cooperativa de Conservación y Mejoramiento Genético Forestal de Costa Rica (en adelante GENFORES), creada y dirigida por el ITCR (Murillo *et al.*, 2003; Gutiérrez *et al.*, 2003), son una base importante de apoyo para un programa de conservación *ex situ* (Murillo, *et al.*, 2003). La cooperación internacional será sin embargo vital, para poder capacitar al personal nacional y compartir experiencias con otras instituciones de mayor experiencia en este campo.

Algunas especies forestales han sido empleadas por la industria forestal desde hace muchos años, debido básicamente a la belleza de su madera. Esto ha provocado que

especies forestales de los géneros *Platymiscium*, *Dalbergia* y *Swietenia* entre muchas, vean disminuidas sus poblaciones naturales cada día.

Existen muy variados argumentos técnicos que justifican los riesgos que esto representa para la continuidad de las especies en los bosques. Debido a estas causas, el Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE) de Costa Rica, establece el Decreto Ejecutivo de Veda N° 23700-MINAE de enero 1997 (MINAE, 1997), en el cual se establece la veda (protección total de corta) para 18 especies forestales. Por su parte, Jiménez (1998) incluye otras especies forestales en diferentes categorías: especie en peligro de extinción, especie amenazada, especie poco común.

Sin embargo es necesario evaluar cual es el estado de protección para las especies según la legislación nacional, otras que se encuentran bajo algún grado de amenaza, además de aquellas que están protegidas por la Convenciones Internacionales que Costa Rica ha suscrito, como es el caso de: Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES), y la inclusión de especies en los listados de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN).

En Costa Rica solamente existen tres decretos de veda: el decreto N° 237000-MINAE (que veda las especies que se mencionan en el Apéndice 1) y dos decretos sobre *Dipteryx panamensis* (Decreto N°25167- MINAE) para evitar su aprovechamiento maderable (MINAE, 1996a) y el Decreto N° 25663-MINAE para mantener la restricción a la corta y aprovechamiento (MINAE, 1996b).

Sin embargo, en algunas Áreas de Conservación han tomado medidas restrictivas para proteger algunas especies forestales, empleando criterios de orden regional, local, como es el caso de la resolución administrativa tomada en el Área de Conservación Tempisque, donde veda a *Dalbergia retusa*, *Sideroxylon capiri*, *Astronium graveolens*, *Hymenaea courbaril*, *Ceiba pentandra*, *Anacardium excelsum*, *Albizia niopoides* y el género *Manilkara*, además de la restricción de aprovechamiento de *Cedrela odorata*.

7.1 *¿Tamaño mínimo de población para garantizar su conservación?*

Esta puede considerarse quizá como la discusión clave en un programa de rescate de recursos genéticos. Los argumentos van desde la colecta de individuos en la mayor cantidad de poblaciones hasta la visión pragmática de focalizar en aquellas pocas poblaciones que reúnan la mayor diversidad o representatividad genética posible (Murillo, 2005). Cuando se habla de representatividad de la biodiversidad dentro de una especie, se refiere por lo general a la cantidad de variantes existentes, que puede entonces expresarse en términos de alelos. Aquella(s) población(es) con la mayor cantidad de alelos presentes, será entonces la de mayor riqueza genética. Debe entonces introducirse aquí el criterio de la frecuencia (abundancia) de esos alelos en la población. A mayor cantidad de alelos junto con una mayor equidad en las frecuencias de esos alelos en la población, mayor riqueza genética. Este es el binomio base de todo análisis de representatividad genética de una población, de tamaño de muestra, de número de individuos a muestrear, número de poblaciones a incluir en una muestra, entre otros temas asociados (Murillo, 1997, capítulo V "Representativity of the field samples"; Brown and Hardner, 2000; Frankham *et al.*, 2002, capítulo XIV "Genetic viable populations"; Murillo, 2005).

En términos prácticos la discusión se resuelve por un balance entre, tamaño de muestra vs captura de la mayor cantidad posible de alelos según su frecuencia en la población. La mayoría de los trabajos sobre el tema concluyen que con una muestra aleatoria de al menos 30 individuos no emparentados, se logra capturar un 95% de los alelos con frecuencia superior al 0,05 en la población (Frankham *et al.*, 2002; Brown and Hardner, 2000). En especies cuyo sistema reproductivo o debido al grado de aislamiento, registren una alta tasa de autofecundación, la muestra debe subir a unos 60 individuos. En números finales, la mayoría de los autores concluyen que una muestra de 50 individuos será un buen balance (Murillo, 1998; Brown and Hardner, 2000; Frankham *et al.*, 2002). Brown and Hardner (2000) agregan, que en aquellas especies donde es posible coleccionar una buena cantidad de semillas por árbol madre ($n > 30$),

entonces es posible disminuir la muestra **mínima a 15 árboles madre**. Debe también evitarse la colecta de plantas de individuos muy cercanos espacialmente para evitar muestras de árboles emparentados, que producirían una menor diversidad genética en la colección.

Finalmente, cuando se está trabajando con especies en alta amenaza de extinción, la muestra a coleccionar es simplemente: **todos los individuos posibles que sean localizados, estén donde estén**.

7.2 Definición del problema:

El Ministerio del Ambiente y Energía (en adelante MINAE), declaró vía decreto, la existencia de un grupo de especies forestales en el grado severo de amenaza de extinción. Esta lista de especies fue elaborada con base en consulta a expertos (Jiménez, 2002), experiencia de colectores botánicos de las instituciones nacionales, y en muy pocos casos, basado en estudios de campo con este fin. Los trabajos de Vilchez con *Peltogine purpurea* (1999), Jiménez con *Guaiacum sanctus* en Guanacaste (1999), Olivas con *Prumnopytes* spp en San Carlos (2001) y Quesada con varias especies nativas de la zona del Tempisque, Guanacaste (2003), han sido los pocos casos reportados sobre estudios de campo con especies nativas forestales amenazadas. En los últimos años, con apoyo de fondos FEES, investigadores del ITCR y la UNA, han iniciado proyectos de rescate de un grupo de cinco especies nativas altamente amenazadas a nivel nacional (Corea, 2009, comunicación personal).

Con recursos propios, GENFORES ha logrado realizar algunas colecciones de especies nativas y exóticas de importancia socioeconómica para el país (Murillo *et al.*, 2000; Murillo *et al.*, 2003). Sin embargo, no ha sido posible realizar trabajos con ninguna de las especies amenazadas o en riesgo de extinción. Este es precisamente el vacío existente en los programas desarrollados en el campo de los recursos genéticos forestales, a la fecha, en el país.

El Fondo Nacional de Financiamiento Forestal (en adelante FONAFIFO) ha destinado desde el 2004, fondos para el establecimiento de poco más de 500 ha con especies nativas amenazadas. Sin embargo, en el país no existe un solo vivero donde sea posible conseguir semilla o plantas de especies nativas amenazadas.

En síntesis, puede decirse, que los eslabones faltantes en la cadena de la conservación de especies forestales amenazadas están en: a) el trabajo de revisión de campo sobre el verdadero estatus de amenaza de las especies, b) análisis y definición de cada caso sobre la estrategia de conservación a desarrollar, c) creación de colecciones *ex situ*, de individuos o poblaciones de las especies amenazadas y con hábitat o condiciones *in situ* sumamente deterioradas.

7.3 Objetivos generales de la investigación

Como principales objetivos del proyecto se estableció:

1. Desarrollar un modelo de Conservación y Exploración de los Recursos Genéticos Forestales en Costa Rica, dentro del sistema de Servicios Ambientales.
2. Poner en marcha un Proyecto Piloto de Conservación de Recursos Genéticos de especies forestales amenazadas, existentes en la zona norte de Costa Rica.

7.4. Objetivos específicos:

1. Explorar y documentar los recursos genéticos forestales amenazados y los de alto valor comercial, de la zona norte de Costa Rica.
2. Determinar *in situ* el grado de amenaza de las especies forestales nativas de la zona norte del país, incluidas en la lista del MINAE de especies forestales amenazadas.

3. Desarrollar acciones de conservación y manejo de colecciones *ex situ*, de recursos genéticos forestales amenazados, así como de los de alto valor comercial de la zona norte de Costa Rica.
4. Sentar las bases tecnológicas-científicas de una organización de país para la conservación y manejo de los recursos genéticos forestales amenazados.

8. Metodología

A continuación se detalla la metodología seguida para cada uno de los objetivos específicos del proyecto.

8.1 Explorar y documentar los recursos genéticos forestales amenazados y los de alto valor comercial, de la zona norte de Costa Rica.

La exploración se realizó con base en giras en sectores de la zona norte donde los técnicos de organizaciones locales y vecinos indicaban la existencia de especímenes de alguna de las cuatro especies de interés del proyecto. En esta etapa se contó con apoyo de técnicos de organizaciones como CODEFORSA y FUNDECOR, de empresas reforestadoras de la zona norte, ingenieros regentes y consultores, y numerosos vecinos de la zona norte. En varias de las giras a campo, participaron estos mismos técnicos ayudando en labores de guía de campo. Con base en esta información se programaron regularmente giras de campo por los cantones de San Carlos, Los Chiles y Sarapiquí principalmente. De manera específica, se recorrieron numerosos caminos de los distritos de Pocosol, Cutris, Florencia y Pital de San Carlos. Con ayuda de un GPS se georeferenciaron los especímenes localizados de cada una de las especies, para posteriormente elaborar un mapa digital con los puntos donde se localizaron cada uno de los individuos.

Como parte del trabajo exploratorio, se intentó estimar el grado de variabilidad genética en los árboles madre aislados y su progenie, localizados en campo. Como pregunta base estaba el poder determinar el grado de autopolinización existente en estos árboles aislados, como producto de su grado de aislamiento geográfico,

resultante de la fragmentación boscosa existente en la región. Se procedió entonces a adaptar los protocolos conocidos de extracción del ADN (ácidos nucleicos totales, Lodhi *et al*/ 1994), así como los protocolos de amplificación del ADN (PCR), para posteriormente explorar su variabilidad genética mediante el análisis de polimorfismo a través de AFLP. Para los protocolos de extracción de ADN se utilizaron 26 muestras (11 de titor y 15 de tostado). Para la mayoría de muestras se extrajeron duplicados, debido a la precipitación de sal. Las electroforesis fueron realizadas en geles de agarosa al 2%, utilizando TBE 1 X y Gel Red™ para la tinción correspondiente. Debido a que el laboratorio de marcadores genéticos y el equipo básico de electroforesis no se logró adquirir hasta finales del 2010, se continúa con el proceso de evaluación del polimorfismo de las cuatro especies. En la actualidad se está realizando el paso de eliminación del ARN, utilizando ARNasa y fenol con Cloroformo:alcohol isoamílico en proporción 1:1 para eliminar la enzima. También se está en el proceso de cuantificar con espectrofotometría, el ADN y proteínas presentes en las muestras. De esa forma, se procederá a la aplicación del protocolo de AFLPs y evaluación de al menos 10 combinaciones de imprimadores selectivos.

8.2 Determinar *in situ* el grado de amenaza de las especies forestales nativas de la zona norte del país, incluidas en la lista del MINAE de especies forestales amenazadas.

Con base en la georeferenciación de individuos de las especies amenazadas y un análisis de datos de inventarios locales (Quirós, 2002; Solano, 2004; CODEFORSA), análisis de la red de parcelas permanentes existente en las organizaciones locales (CODEFORSA, FUNDECOR, ITCR y UNA), se estimó el tamaño de población real existente en campo. Los valores de abundancia y frecuencia de individuos de las cuatro especies de interés vs. un análisis de superficie de bosques remanentes en la zona norte (con base en el último mapa de vegetación elaborado en 2005), se pudo estimar un tamaño de población regional por especie. Así como un estimado de tamaño

de población general para cada especie, con base en las dimensiones del bosque remanente.

El mapa elaborado permitió un análisis espacial de presencia de poblaciones nativas de la especie tostado y una estimación del grado de aislamiento entre poblaciones.

8.3 Desarrollar acciones de conservación y manejo de colecciones *ex situ*, de recursos genéticos forestales amenazados, así como de los de alto valor comercial de la zona norte de Costa Rica.

Para cada una de las especies se colectó plántulas de regeneración natural y semilla (en el caso de tostado), que fue llevada al invernadero forestal de la sede del ITCR en Santa Clara, San Carlos. Cada espécimen fue identificado como una familia y su progenie se mantuvo identificada y separada.

En condiciones de invernadero todas las plantas fueron transplantadas a potes con tierra. Las colectas de campo se continuaron todos los años de vigencia del proyecto.

Una vez establecidas las plantas en invernadero (excepto con tostado debido a que no toleró el trasplante de campo a bolsa), se procedió a intentar su propagación vegetativa, utilizando la metodología de propagación in vivo desarrollada por GENFORES (Badilla y Murillo, 2009), basada en la colecta de brotes terminales y su posterior enraizamiento en bandejas con arena dentro de minitúneles con alta humedad relativa y temperatura.

Con todas las especies se procedió a desarrollar un protocolo de análisis genético con base en marcadores moleculares. Se inició con **a)** la optimización del protocolo de extracción y depuración de ADN; **b)** optimización del protocolo de amplificación del ADN mediante el uso del PCR; **c)** análisis de combinaciones de imprimadores para AFLP, con el fin de encontrar aquellas combinaciones con alto polimorfismo y buena resolución de bandas; **d)** validación de microsatélites (solo en *Dipteryx panamensis*) a partir de *primers* existentes desarrollados para especies cercanas.

8.4 Sentar las bases tecnológicas-científicas de una organización de país para la conservación y manejo de los recursos genéticos forestales amenazados.

Con base en lo aprendido de la posibilidad de coleccionar germoplasma (georeferenciación), el uso de información existente (inventarios, mapas), caracterización molecular y análisis de su variabilidad, la posibilidad de propagación vegetativa *in vivo*, se propone un procedimiento de establecimiento de unidades de conservación *ex situ* que puedan servir luego como fuentes semilleras y de restauración.

A manera de modelo de trabajo, se realizó un esfuerzo completo con la especie nativa vedada almendro (*Dipteryx panamensis*). Se realizaron colectas en 3 procedencias (Crucitas de Cutris, CoopeSanJuan y Sarapiquí), de 10 árboles de cada una de ellas (9 de CoopeSanJuan) y no menos de 200 semillas (progenies) por árbol. Los árboles a los que se les colectó la semilla, estaban separados por no menos de 500 m de distancia entre sí, con el fin de evitar su posible parentesco y capturar una mayor variabilidad genética. Las colectas se reprodujeron en el invernadero forestal en Santa Clara de San Carlos y se estableció un ensayo de procedencia/progenie en junio 2010 en el mismo campus del ITCR en Santa Clara, San Carlos. El diseño de campo fue el mismo desarrollado y utilizado por GENFORES (Badilla y Murillo, 1998) y ampliado posteriormente (Murillo y Badilla, 2009), que básicamente es un diseño de Bloques Completos al Azar, con 6 repeticiones o bloques y dentro de cada bloque, se plantan 6 medios hermanos por familia en 3 parejas aleatorizadas. En este caso, sin embargo, dentro de cada bloque hay 3 procedencias, por tanto, los datos podrán ser analizados también como un diseño experimental de Parcelas Divididas (Parcela Mayor la procedencia, Parcela Menor la familia dentro de procedencia).

En el laboratorio de Genética Molecular del Dr. Albertazzi (Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular, UCR) se realizó un proceso de caracterización y validación del uso de AFLP y de microsatélites para esta especie, con el fin de poder analizar posteriormente, variabilidad y autoconsanguinidad intrafamiliar e

intraprocedencia.

9. Resultados y Discusión

Objetivo 1. Explorar y documentar los recursos genéticos forestales de las especies forestales amenazadas.

Debido a la magnitud del trabajo por realizar y a sugerencia de varios expertos consultados, así como por la dificultad de localizar suficientes individuos de todas las especies amenazadas, se concentró el trabajo en las especies camíbar (*Copaifera camibar*), titor (*Sacoglathis trichogyna*), cola de pavo (*Hymenolobium mesoamericanum*) y tostado (*Sclerolobium costaricense*). La estrategia buscó lograr resultados concretos en conservación genética efectiva.

La primera actividad fue buscar y analizar datos de frecuencia y abundancia de las cuatro especies en las bases de datos existentes de la zona. Básicamente, la red de parcelas permanentes existente establecida por las organizaciones CODEFORSA, FUNDECOR, UNA, CATIE e ITCR en los últimos 20 años, así como algunos inventarios de bosques realizados por profesionales forestales, proyecto Crucitas, etc. Con esta información se buscó establecer algún tipo de relación de la presencia espacial original de estas especies en los bosques originales de la zona norte.

La segunda actividad fue georeferenciar con ayuda del GPS, los individuos localizados en campo de las cuatro especies. Se procedió a localizar individuos presentes en fincas, a través de referencia de vecinos, finqueros y por medio de colaboración de personas de la región conocedoras de estas especies. Se procedió también a buscar individuos a través de giras por rutas donde se mencionaba la existencia de especímenes. Con esta información se procedió a construir un mapa de ubicación de individuos para cada una de las cuatro especies.

Se utilizó el último mapa de existencia de bosques naturales de la zona norte (2005), con el fin de relacionar posible área de bosque natural presente con los valores de

abundancia y frecuencia. Esta información permitió obtener un estimado de tamaño de población existente para cada una de las cuatro especies.

Con base en el último mapa de vegetación de la zona norte del país (2005) se determinó la cantidad de bosque natural y potreros arbolados presente a la fecha. Los resultados nos indican la existencia aproximada de **272 235 ha de bosques naturales y 18 480 ha de bosques secundarios**. Debe tenerse presente que ambos tipos de vegetación se encuentran sumamente fragmentados en toda la región norte, con la única excepción de la nueva Área de Protección Maquenque, zona limítrofe con Nicaragua, donde se localiza un bosque compacto de considerable extensión (superior a las 40 000 ha).

Con base en el inventario forestal de la zona norte (proyecto COSEFORMA 1995) y de inventarios parciales de fincas u organizaciones, se logró construir el cuadro 1, con los valores de abundancia para un grupo de especies amenazadas.

Cuadro 2: Abundancia en bosques naturales de especies nativas de la zona norte de Costa Rica putativamente amenazadas.

					Potrero								
Especie	La Fortuna, Caño Negro, Florencia, Sarapiquí, Los Chiles Cutris, Río Cuarto, Promedio Pocosal Pital				Los Chiles Pocosal, Cutris, Florencia		Bosque Bosque Potrero Julio Primario Secundario El Concho Kenner Quirós, Boca Tapada				Abundancia	Desv. Est.	
Camíbar					0,62				0,26	0,66		0,51	0,22
Títor	0,58	0,81	0,57	0,65			0,88			3,11	4	1,51	1,42
Cola De Pavo						0,29				0,22	0,5	0,34	0,15
Tostado		1,41	0,66	1,04	1,23	0,58		0,39	0,77	3,77		1,23	1,08
Carey		1,09	0,87	0,98							3,5	1,61	1,26
Cristóbal										0,22		0,22	
Manú		0,43								0,88	0,5	0,60	0,24
Jícaro		0,23	0,46								1	0,56	0,40
Cocobolo		0,62	0,44			1,46	0,88	0,78				0,84	0,39

Puede observarse en el cuadro 2, que los valores de abundancia promedio (columna en amarillo) registran siempre valores que oscilan desde 0,22 hasta poco más de 1,6 individuos por ha, que podrían ampliarse hasta poco más de 2,5 si se considera su

desviación estándar. Bajo la premisa de que los árboles fueron identificados correctamente en todos estos inventarios, estos valores permiten argumentar que estas especies denominadas como amenazadas, realmente son especies con una baja abundancia o raras dentro del ecosistema natural, sin mediar causas antropogénicas. Argumentos a favor de esta hipótesis son los valores consistentes de abundancia en los distintos inventarios, realizados por personas y momentos diferentes, en bosques con poco disturbio. Así también, a pesar de registrarse valores relativamente altos de desviación estándar en la abundancia promedio de las especies tostado, titor y carey, los valores absolutos de abundancia no llegan a sobrepasar el 3% dentro de las poblaciones naturales. Lo cual confirma su condición de especies raras y de abundancia baja en los bosques naturales de la zona norte. Bajo esta hipótesis, el tema de la amenaza de estas especies está entonces en función del fenómeno de la fragmentación de bosques y de la distancia entre estos fragmentos (distancia de apareamiento entre individuos). Muy posiblemente, estas especies no sufrieron una presión alta de parte de los madereros, debido tal vez a que su madera no llegó a alcanzar una cotización importante en el mercado local de la madera. De lo contrario, sus valores de abundancia hubieran mostrado cambios dramáticos entre los registros de los diferentes inventarios.

Del valor de abundancia es posible estimar la distancia entre individuos en la población, por tanto, una estimación de la distancia máxima para que ocurra el contacto de apareamiento entre individuos (**Distancia de Apareamiento**). Para estimar la distancia máxima se debe utilizar entonces el valor de abundancia más bajo reportado. Si se asume que los datos aquí mostrados son el valor promedio de abundancia de cada inventario, significa necesariamente que dentro de cada inventario existen valores de abundancia aún más bajos. Si se asume una variación máxima de un 50% entre los valores de abundancia puntuales, puede entonces utilizarse un valor máximo si se multiplica por 2 toda la expresión:

$$\text{Distancia máxima entre individuos} = 2 \times (1/\text{abundancia mínima}) \times 100 \quad (1)$$

Tenemos entonces para el caso de las cuatro especies de interés los siguientes valores:

Cuadro 3: Estimación de la Distancia Máxima de Apareamiento entre individuos en la población para cada una de las cuatro especies nativas investigadas.

Especie	Valor mínimo de abundancia	Distancia máxima entre individuos (m) $2*(1/Abundancia)*100$
Camíbar	0,26	770
Titor	0,57	350
Cola de pavo	0,22	910
Tostado	0,58	345

Los estimados que se reportan en el cuadro 2 pueden ser de utilidad práctica para estimar la distancia entre fragmentos de bosque para que se origine un grado de aislamiento efectivo. Puede observarse que distancias mayores a 1 km son suficientes para que ocurra un grado alto de aislamiento o ausencia de contacto de apareamiento entre individuos de las cuatro especies investigadas.

Cuadro 4: Cantidad de individuos estimados/por especie, presentes en los bosques naturales y potreros de la zona norte de Costa Rica, con base en sus valores de abundancia.

Especie	N esperado Bosque Natural	N esperado en Bosque Secundario
Camíbar	139747	9487
Títor	412370	27993
Cola De Pavo	91652	6222
Tostado	335019	22742
Carey	438298	29753
Cristóbal	59892	4066
Manú	164248	11150
Jícaro	153359	10411
Cocobolo	227588	15450

Estos resultados deben observarse con precaución. El método empleado tiene un buen fundamento científico basado en los principios del muestreo y el censo en algunas ocasiones. De acuerdo con el análisis de los cuadros 1 y 3, se espera que existan aproximadamente casi 150 000 individuos de la especie camíbar, más de 430 000 de la especie titor; casi 100 000 individuos de cola de pavo y más de 350 000 de tostado en la zona norte del país. Sin embargo, estos datos requieren de un análisis espacial, donde se analice el tamaño de los fragmentos de bosques, distancia entre los fragmentos, para poder comprender el grado de vulnerabilidad y aislamiento de los árboles remanentes.

Objetivo 2: Determinar *in situ* el grado de amenaza de las especies forestales nativas de la zona norte del país, incluidas en la lista del MINAE de especies forestales amenazadas.

Con base en la cantidad de individuos localizados en campo vs el análisis de abundancia y frecuencia natural de las especies, se procedió a relacionar la información para estimar un tamaño posible de población remanente. Para cada especie se consideró la existencia de poblaciones, hoy día fragmentadas y separadas geográficamente entre sí. Lo cual aporta información sobre su grado de amenaza actual. De manera general, la presencia de menos de 30 individuos no emparentados, significa ya la existencia de

una población natural severamente amenazada (Frankham et al, 2002). El grado de amenaza podría definirse en forma práctica, con base en la determinación de la **cantidad de fragmentos de bosques de ciertas dimensiones capaces de sustentar una población efectiva (N_e) > 50 individuos**. Este tamaño de bosque será diferente para cada una de las cuatro especies, debido a sus valores diferentes de abundancia, tal y como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 5: Análisis de las dimensiones mínimas del fragmento de bosque para sustentar una población efectiva mayor a 50 individuos ($N_e = 10\%$ de N), para cada una de las cuatro especies putativamente amenazadas de la zona norte.

Especie	Tamaño del fragmento en ha					
	200	500	750	1000	2000	2500
Camíbar	120	300	450	600	1200	1500
Títor	114	285	428	570	1140	1425
Cola de Pavo	44	110	165	220	440	550
Tostado	132	330	495	660	1320	1650

El cuadro 4 se construyó con base en el valor más bajo de abundancia registrado para cada especie y utilizando el criterio de que el tamaño de población efectivo (N_e) equivale a un 10% de la población total (Frankham et al, 2002). Puede observarse que para el camíbar, títor y tostado, bosques remanentes de un tamaño aproximado a 900 ha son suficientes para sustentar una población de tamaño mínimo efectivo de baja vulnerabilidad. Para el caso del cola de pavo, el tamaño del fragmento deberá ser de al menos 2300 ha. Esta última especie es por tanto, la que se podría considerar bajo una amenaza potencial mayor.

Otro análisis adicional será también, el grado de aislamiento o de vulnerabilidad de estos mismos fragmentos de bosque. De manera preliminar, se pudo constatar que la especie tostado presenta poblaciones abundantes en las zonas de Florencia (más de 100 individuos) y en todo el territorio del distrito de Pocosol (más de 500 individuos). La especie presenta una capacidad de producción de semilla anual sumamente elevada,

con una tasa muy alta de germinación. Sin duda estas poblaciones son de gran tamaño, aunque no conocemos aún su variabilidad genética, que podría disminuir en algún grado su tamaño de población efectiva y posibilidad de perpetuación. Los datos de campo parecen apoyar la conclusión preliminar de que esta especie no se encuentra en grado de amenaza importante y que muy fácilmente podría ser restaurada en la zona norte. Su enorme capacidad de propagación sexual anual es uno de los argumentos en su favor.

En este trabajo no se realizó un análisis de tamaño de fragmentos de bosque nativo existente en la zona de investigación. Sin embargo, se conoce bien que los bloques de bosque nativo de la zona de protección de Maquenque (> 30 000 ha), zona de Crucitas y alrededores (> 2000 ha), zona protegida de La Selva y alrededores (> 5 000 ha) y bloques continuos bajo manejo de FUNDECOR en Sarapiquí (> 5 000), permiten concluir que ninguna de las cuatro especies investigadas se encuentra bajo un grado de amenaza real severo en la zona norte de Costa Rica. El árbol cola de pavo se determinó como la especie con mayor vulnerabilidad potencial, sin embargo aumenta su abundancia hacia la zona de Sarapiquí, donde precisamente se localizan bloques importantes de bosque nativo de gran magnitud.

Objetivo 3: Desarrollar acciones de conservación y manejo de colecciones *ex situ*, de recursos genéticos forestales amenazados, así como de los de alto valor comercial de la zona norte de Costa Rica.

De manera frecuente, se procedió a realizar colectas de semilla fresca y plántulas de las cuatro especies. Con estas colecciones se intentó asegurar que procedieran de un solo árbol madre, con el fin de poder tener mayor información genética. Con este material se establecieron pequeñas colecciones de cada especie, separada por árbol madre en el invernadero del Programa en la sede del ITCR en Santa Clara, San Carlos. Con las especies camíbar, titor y cola de pavo se realizaron ensayos de propagación vegetativa *in vivo*, basados en el mismo sistema de propagación vegetativa empleado

con las demás especies forestales desarrollado por el Programa GENFORES. Las estaquillas no lograron enraizar, aunque no se murieron. Se decidió ubicar las colecciones dentro del nuevo invernadero, con la hipótesis de que el ambiente de humedad, sombra y temperatura, logren estimular un nuevo brote capaz de enraizar, de manera semejante a lo logrado con las demás especies forestales. Esta línea de trabajo se le deberá dar mayor prioridad, ya que es quizá la única manera práctica de lograr mantener y reproducir en forma efectiva, viable y eficiente, colecciones de germoplasma de este tipo de especies.

Cuadro 6: Relación de colectas y número de individuos localizados en campo para cada una de las cuatro especies nativas amenazadas

Especie	Titor	Tostado	Camíbar	Cola de Pavo
No. de familias colectadas	12 familias (239 progenies en invernadero)	14 familias (375 progenies)	8 familias (196 progenies)	5 familias (33 progenies)
No. de árboles localizados en campo	20	50	8	20

Uno de los problemas encontrados ha sido la alta tasa de mortalidad de plantas en nuestros viveros e invernaderos. Con la especie tostado no se logró mantener vivo ni un solo individuo colectado de regeneración natural. Por el contrario, las otras tres especies si nos permitieron coleccionar y mantener vivos progenies recolectadas en campo. La fenología ha estado un tanto errática en el 2008 y 2009. Con la especie tostado hemos encontrado diferencia en la época de liberación de semilla de hasta 2 meses de una población a la otra (de Florencia a Pocosol de San Carlos, por ejemplo), donde hubo semilla abundante en una de ellas y ninguna semilla en la siguiente población en el mismo periodo de recolección. Sin duda, la información fenológica

deberá mejorarse para lograr mayor efectividad en el trabajo de rescate de estas especies amenazadas.

Como parte del esfuerzo por establecer fuentes de conservación y producción de germoplasma *ex situ*, se establecieron ensayos de procedencias/progenie con las especies pilón (en Rincón de Osa), almendro (en sede del ITCR en Santa Clara y en Rincón de Osa), cebo (en sede del ITCR en Santa Clara, en Rincón de Osa y en La Alegría de Siquirres). La colección de pilón consiste en 19 genotipos de San Carlos, la colección de cebo consiste en 24 familias de San Carlos y 1 familia de Pérez Zeledón, el almendro consiste en 29 familias colectadas en tres procedencias (Crucitas, CoopeSanJuan de Cutris, San Carlos y Puerto Viejo de Sarapiquí). Se tiene previsto establecer una réplica completa del ensayo de pilón en la sede del ITCR en Santa Clara, así como pequeñas unidades de conservación *ex situ* para titor, camíbar, cola de pavo y tostado en el campus del ITCR en Santa Clara en el mes de junio 2011. Estas colecciones no se plantaron antes por estar muy pequeñas durante el II semestre del 2010. Todas las colecciones cuentan con un diseño experimental de Bloques Completos al azar con 6 repeticiones. Las familias son representadas por 6 plantas subdivididas en 3 parejas aleatorizadas dentro de cada bloque. De modo que posteriormente, **estos ensayos se convertirán en fuentes semilleras y de recombinación genética entre individuos de cada una de las 7 especies nativas representadas.**

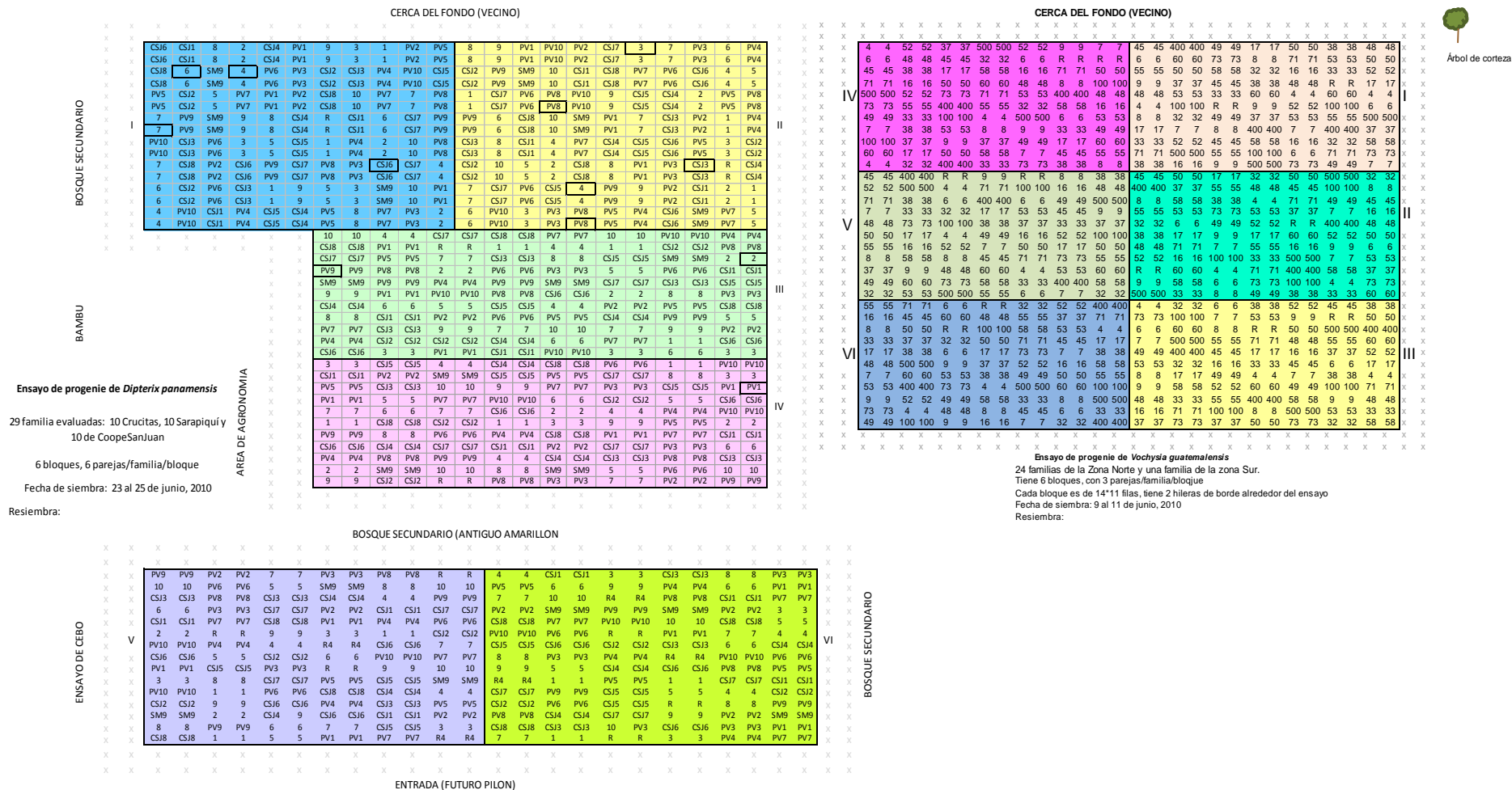


Figura 1. Ensayos de procedencias/progenie con las especies cebo y almendro establecidos en la sede del ITCR en Santa Clara, San Carlos

Con las plantas se procedió a realizar un análisis genético por medio del uso de marcadores genéticos (AFLP), que permitieran estimar variabilidad genética de cada población y dentro de cada árbol madre, tasa de autofertilización (consanguinidad), y grado de parentesco de las colecciones. El trabajo con los AFLP se realizó en los laboratorios de genética molecular del CIB en Cartago y en los últimos 6 meses, en el nuevo laboratorio de genética molecular forestal del CIIBI en Cartago.

Se logró un avance en la optimización de los protocolos de extracción de ADN con titor, cola de pavo y camíbar, así como buen funcionamiento de la técnica de AFLP's. Sin embargo, la incapacidad por maternidad de Fabiana Rojas durante buena parte del 2009, no permitió continuar el análisis en detalle de las mejores combinaciones de "primers" para cada especie. Esto limitó el desarrollo de esta línea de trabajo en el proyecto durante todo el II semestre del 2009. El laboratorio de genética molecular se logró establecer y equipar hasta el mes de noviembre del 2010, debido a los problemas con el uso de los fondos FEES durante buena parte del 2010. Este laboratorio entró en funciones oficialmente en febrero del 2011. En la actualidad, con la participación de estudiantes de la Escuela de Ingeniería Forestal, se está avanzando en los protocolos de AFLP para las especies de Titor y Tostado. Se estima que esta parte del proyecto se logrará concluir en el 2011.

Cuadro 7: Trabajos con AFLP's (marcadores genéticos) realizados con las cuatro especies nativas amenazadas

ESPECIE	Protocolo de extracción de ADN	Marcadores AFLP
<i>Copaifera aromatica</i> (Camíbar)	✓	ACT-AGC x CAA ACT x CAC
<i>Hymenolobium mesoamericanum</i> (Cola de pavo)	✓	ACG-ACT x CAA ACT-AGC x CAC
<i>Sacoglathis trichogyna</i> (Titor)	✓	No se han probado aún
<i>Sclerolobium costaricense</i> (Tostado)	✓	No se han probado aún

Con base en el trabajo realizado en el CIBCM (Universidad de Costa Rica) se evaluaron 30 pares de imprimadores para amplificar regiones intergénicas de cloroplastos en muestras al azar de *Hyeronima alchorneoides*, *Vochysia guatemalensis*, *Dipteryx panamensis*, *Copaifera aromática* e *Hymenolobium mesoamericanum*.

La figura 1 muestra los ácidos nucleicos totales para 40 muestras, debido a que se han realizado duplicados. Se observó para todas las muestras (excepto para la primera CT1) una banda de ADN intensa y poco ARN.

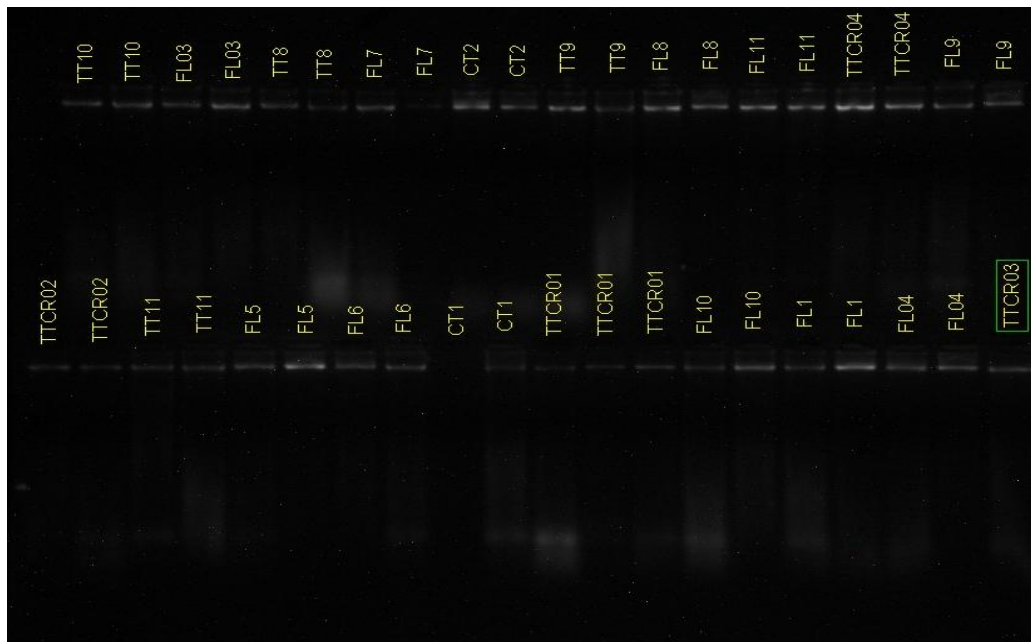


Figura 1. Ácidos nucleicos totales para muestras de titor y tostado: TPCR y TT = Titor; CT, FL y TPV = Tostado.

Objetivo 4: Sentar las bases tecnológicas-científicas de una organización de país para la conservación y manejo de los recursos genéticos forestales amenazados.

La experiencia de campo generada en el proyecto permitió definir prioridades de trabajo, información relevante para lograr colectas suficientes por especie, métodos de propagación y mantenimiento en invernadero de las colecciones, análisis práctico y utilización de la información de su variabilidad genética (uso de marcadores

genéticos). El trabajo de conservación genética efectiva puede resumirse en: a) determinación del tamaño de población efectiva remanente; b) colectas de campo, hasta donde sea posible superiores a 30 individuos, 15 como mínimo; c) información sobre la fenología reproductiva, principalmente floración, fructificación y liberación de semillas; d) desarrollo de técnicas de propagación vegetativa; e) estimación de variabilidad genética, tasa de autopolinización y grado de parentesco; f) establecimiento de colecciones con la mayor variabilidad genética posible para ser reintroducidas a campo.

a) Propuesta de cómo funcionaría un Programa en la creación y manejo de unidades de conservación ex situ para la zona norte del país

1. Se estima el valor de abundancia de las especies de interés con base en datos de varios inventarios existentes en la región de trabajo. El uso de datos de la red nacional de parcelas permanentes de investigación en bosque natural, es una fuente de información de alto valor.
2. Con base en el valor de abundancia más bajo reportado, se estima el **Tamaño Mínimo del Fragmento** de bosque necesario para albergar al menos 500 individuos. Este dato corresponde con un tamaño de población efectivo (N_e) de 50 individuos, basado en el 10% de N de acuerdo con Frankham *et al.* (2002).
3. Se realizan censos poblacionales de individuos superiores a 30 cm (dap) en al menos 4 bosques naturales existentes en la región, con el fin de determinar sus valores de abundancia y frecuencia. Estos resultados se contrastan con los obtenidos previamente mediante el uso de datos de inventarios y de la red de parcelas permanentes de bosque natural del país.
4. Con base en el último mapa de vegetación existente, se determina y cuantifica la presencia de fragmentos de bosques que cumplen con el Tamaño Mínimo del Fragmento y se estima el **Grado de Aislamiento Geográfico** (distancia media entre estos fragmentos). El aislamiento geográfico ocurre cuando la distancia

física entre individuos supera la Distancia Máxima de Apareamiento, que está en función del agente polinizador. La Distancia Máxima de Apareamiento en metros se obtiene $2 \times (1/\text{abundancia mínima}) \times 1000$.

5. Con base en el número de Fragmentos de Bosque con el tamaño mínimo requerido y su Grado de Aislamiento Geográfico se puede estimar el grado de amenaza de la especie de interés:

Ningún Fragmento	1 Fragmento	5 Fragmentos aislados	> de 5 Fragmentos no aislados
Especie altamente amenazada	Especie amenazada	Especie ligeramente amenazada	Especie no amenazada

6. Dependiendo del grado de amenaza, se colecta material vegetativo, plántulas o semilla en fragmentos del mayor tamaño posible, para evitar plántulas producidas por autofecundación o de poblaciones severamente reducidas.
7. Se establecen bancos de germoplasma en invernadero (vegetativos principalmente), hasta completar un número > 40-50 genotipos, procedente preferiblemente de no menos de 15 árboles madre.
8. Se trabaja en protocolos de propagación vegetativa de las colecciones genéticas. Si se logra multiplicar el material base, se podrá donar colecciones genéticas a instituciones regionales con capacidad de divulgación y distribución.
9. Las colecciones se mantienen debidamente identificadas por su lugar de origen y separadas por árbol madre.
10. Se establecen plantaciones ex situ de amplia base genética en al menos dos sitios seguros siguiendo el diseño de campo utilizado en esta investigación. Las plantaciones se establecen preferiblemente en Sistemas Agroforestales con amplio espaciamiento inicial entre individuos, no menor de 5 x 5 metros.
11. Cuando la especie no soporte el ambiente de plantación, se propone establecer las colecciones en sistemas bajo dosel en bosques secundarios, en sistemas agroforestales u otras opciones.

12. Las plantas se propagan vegetativamente en invernadero de alguna Institución responsable, donde se venden a 0,5 US \$/planta para financiar el Programa. Se promueve el uso de los PSA para establecer plantaciones con especies amenazadas o vedadas, creado por el FONAFIFO.

b) Propuesta de cómo se manejarían estas plantaciones o unidades de conservación *ex situ*

1. El diseño de campo propuesto presumiblemente favorecerá una alta tasa de recombinación genética entre individuos por polinización abierta (Figura 1).

Las colecciones de campo se establecerán siguiendo el diseño que GENFORES ha desarrollado y utilizado en colecciones genéticas (Badilla y Murillo, 1998):

x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	14	14	2	2	10	10	6	6	x	x
x	x	5	5	8	8	13	13	1	1	x	x
x	x	16	16	12	12	3	3	16	16	x	x
x	x	9	9	10	10	15	15	7	7	x	x
x	x	1	1	4	4	14	14	11	11	x	x
x	x	3	3	11	11	8	8	2	2	x	x
x	x	13	13	6	6	15	15	9	9	x	x
x	x	7	7	12	12	5	5	4	4	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Figura 2: Diseño de campo para el establecimiento *ex situ* de colecciones genéticas de especies forestales.

El espaciamiento inicial debe ser de por lo menos 5 x 5 m y posteriormente, de cada pareja, el individuo con el peor desempeño debe ser eliminado. Con esto se logra abrir mayor espacio por árbol para permitirle un mejor desarrollo de su copa y a la vez, evitar que se polinicen entre sí individuos de procedentes de una misma familia.

10. Discusión y Conclusiones

Se concluye que las especies nativas investigadas, registran suficiente evidencia de que su grado de amenaza no es tan alto como se reporta en las publicaciones de Jiménez (1998). En particular el tostado, es una especie nativa que exhibe al menos tres poblaciones debidamente constituidas (Pocosol, Florencia y Puerto Viejo de Sarapiquí) y un robusto tamaño de población efectivo. Los datos de campo, su alta capacidad de producción de semilla y la demás evidencia compilada, permiten concluir que el tostado no está en riesgo inminente de extinción. Por tanto, su grado de amenaza debería disminuir de categoría.

La colecta de regeneración natural es una opción válida para el titor, cola de pavo y camíbar, pero no para el tostado, dado su alta sensibilidad al trasplante.

Para el camíbar, titor y tostado, bosques remanentes de un tamaño aproximado a 900 ha son suficientes para sustentar una población de tamaño mínimo efectivo de baja vulnerabilidad. Para el caso del cola de pavo, el tamaño del fragmento deberá ser de al menos 2300 ha. Esta última especie es por tanto, la que se podría considerar bajo una amenaza potencial mayor.

La distancia máxima de apareamiento para las cuatro especies nativas investigadas, oscila entre los 350 m para el titor y el tostado, hasta 770 m en camíbar y 910 m para el cola de pavo. Estos valores indican que a distancias mayores a 1 km entre dos individuos de una misma especie, muy probablemente no ocurrirá contacto de apareamiento.

11. Recomendaciones

La principal limitante del proyecto por el atraso en la puesta en marcha de nuestro laboratorio y por tanto, principal recomendación, es continuar con el análisis de la información que los marcadores genéticos puedan brindar sobre la tasa de variabilidad genética de estas colecciones. Gracias a que el curso de mejoramiento genético forestal se imparte en este I semestre del 2011, se espera lograr avanzar con este faltante de información.

Las colecciones de pilón, camíbar, tostado, cola de pavo y titor deberán ser establecidas en el espacio que la dirección de la sede del ITCR en San Carlos designó. Estas colecciones, de lograr su adaptabilidad al terreno, podrán funcionar como bancos de germoplasma y fuentes semilleras de todas estas especies nativas.

Se debe continuar intentando adaptar el protocolo de propagación vegetativa utilizado por GENFORES, con las cuatro especies amenazadas incluidas en este proyecto. La técnica de propagación es vital para lograr reproducir en forma sostenible estas colecciones de germoplasma.

Se debe continuar incorporando nuevas colectas de especímenes de estas cuatro especies al Programa de Conservación Genética de GENFORES.

12. Agradecimientos

Un agradecimiento sincero a la VIE por todo el apoyo financiero y administrativo brindado durante el desarrollo de este proyecto. Un agradecimiento al CIIBI por su apoyo administrativo y de proveeduría en todo momento durante la vigencia del proyecto.

13. Referencias

- Badilla, Y. y Murillo, O. 1998. Propuesta de un diseño de parcela para la investigación con especies nativas. *Kurú* N° 25: 4.
- Badilla, Y.; Murillo, O.; Hidalgo, N.; Sánchez, S. & Obando, G. 1999a. Programa de Mejoramiento y Conservación Genética de Especies Forestales de altura de Costa Rica. En: II Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. 18-22 de octubre, 1999. Santo Domingo, República Dominicana. 91-96 p.
- Badilla, Y.; Murillo, O.; Hidalgo, N.; Sánchez, S. & Obando, G. 1999b. Programa de Mejoramiento y Conservación Genética de Especies Forestales. En: IX Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. 19-23 de julio, 1999. San José, Costa Rica.
- Badilla Y. y Murillo, O. 2009. Evolución de los sistemas de propagación clonal in vivo de teca en Costa Rica. En: I Congreso Internacional del Cultivo de teca. Universidad de Quevedo, Ecuador. 16-17 de setiembre, 2009

- Boshier, D.H. & Young, A.G. 2000. Forest Conservation Genetics: Limitations and Future Directions. In: Young, Boshier and Boyle (eds.). Forest Conservation Genetics. Principles and Practice. CSIRO and CABI Publishing. Australia: 289-297 p.
- Brown, A.H.D. & Hardner, C.M. 2000. Sampling the gene pools of forest trees for ex situ conservation. In: Young, Boshier and Boyle (eds.). Forest Conservation Genetics. Principles and Practice. CSIRO and CABI Publishing. Australia: 185-196 p.
- Bund-Länder-Arbeitsgruppe "Erhaltung Forstlicher Genressourcen". (1996). Konzept zur Erhaltung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland. Information on Background, Tasks and Activities. In: 4. International Technical Conference on Plant Genetic Resources of the FAO (June 17-23, 1996, Leipzig, Alemania). pp 23.
- CATIE. 1995. jaúl. *Alnus acuminata* ssp. *arguta* (Schlectendal) Furlow. Especie de árbol de uso múltiple en América Central. Colección de Guías Silviculturales No. 18. Turrialba, Costa Rica. 85 pp.
- CONAGEBIO, 2004. Normas generales para el acceso a los elementos y recursos genéticos y bioquímicos de la biodiversidad. Decreto MINAE 31514-Minae. San José, Costa Rica. 52 p.
- Del Valle, A. 2001. Inicio de un programa de conservación y mejoramiento genético de jaúl (*Alnus acuminata* ssp. *arguta*) en Costa Rica. Práctica de especialidad. B.Sc. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Ing. Forestal. Cartago, Costa Rica. 56 p.
- Eriksson, G. Namkoong, G. and Roberds, J. 1995. Dynamic conservation of forest tree gene resources. Forest Genetic Resources No. 23. FAO. Rome.: 2-8.
- Finkeldey, R. y Murillo, O. 1999. Contributions of subpopulations to total gene diversity. Theoretical and Applied Genetics 98: 664-668.
- Finkeldey, R. y Gregorius, H.-R. 1994. Genetic resources: selection criteria and design. In: Kim, Z.S. and Hattemer, H.H. (eds.). Conservation and Manipulation of Genetic Resources in Forestry. Kwang Moon Kag, Seoul, Korea.. pp 322-347
- Finkeldey, R. y Hattemer, H. 1993. Gene resources and gene conservation with emphasis on tropical forests. FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter 94/95-10. pp 6-10.
- Frankham, R.; Ballou, J.D.; Briscoe, D.A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom. 617 p.
- Furlow, 1979a. The systematics of the American species of *Alnus* (Betulaceae). Rhodora 81: 1-121.
- Furlow 1979b. The systematics of the American species of *Alnus* (Betulaceae). Rhodora 81: 151-248.
- Gillet, E.M. GSED. 1994. Genetic Structures from Electrophoresis Data. User's Manual. Version 1.0. 49 p. Göttingen, Germany.
- Gregorius, H.-R. 1978. The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. Math. Biosciences 41: 253-271.
- Gregorius, H.-R. 1987. The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. Theor. Appl. Genet. 74: 397-401.

- Gregorius, H.-R. 1988. The meaning of genetic variation within and between subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 76: 947-951.
- Gregorius, H.-R. 1990. A diversity-independent measure of evenness. *Amer. Natur.* 136: 701-711.
- Gregorius, H.-R. and Bergmann, F. 1995. Analysis of isoenzyme genetic profiles observed in forest tree populations. In: Baradat, Ph., Adams, W.T. and Müller-Starck, G. (eds.) *Population Genetics of Forest Trees*. pp 79-96.
- Gregorius, H.-R. and Roberds, J. H. 1986. Measurement of genetical differentiation among subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 71: 826-834.
- Gutiérrez, B., Quintero, P., Nieto, V. & Murillo, O. 2003. Enfoques cooperativos para el mejoramiento genético y la conservación de recursos genéticos forestales en Chile, Colombia y Costa Rica. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 12(3): 111 - 122.
- Hattemer, H.H. 1995. Concepts and requirements in the conservation of forest genetic resources. *Forest Genetics* 2: 125-134.
- Hattemer, H.H., Bergmann, F. und Ziehe, M. 1993. Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft. J.D. Sauerländer's Verlag. Frankfurt am Main. 492 S.
- Hattemer, H.H.. 1996. Generhaltung in tropischen Wäldern. *Forstarchiv.* 67: 47-52.
- Jiménez, Q. 1998. Árboles maderables en peligro de extinción en Costa Rica. INBio. Heredia, Costa Rica. 2da. Edición revisada y ampliada. 163 pp.
- Lodhi, M.A., Ye, G-N., Weeden, N.F., Reisch, B.I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Molecular Biology Reporter* 12: 6-13.
- MINAE (Ministerio del Ambiente y Energía, CR). 1996a. Decreto Ejecutivo N° 25167-MINAE. La Gaceta. Diario Oficial (CR). jun. 12:3-4. (Vol. 118, no. 111. Se declara una restricción para el aprovechamiento maderable de árboles de Almendro *Dipteryx panamensis*).
- _____. 1996b. Decreto Ejecutivo N° 25663-MINAE. La Gaceta. Diario. Oficial (CR). dic. 18:7-8. (Vol. 118, no. 243. Se mantiene la restricción a la corta o aprovechamiento del árbol conocido como Almendro nombre científico *Dipteryx panamensis*).
- _____. 1997. Decreto Ejecutivo N° 25700-MINAE. La Gaceta. Diario Oficial (CR). enero 16:9-10. (Vol. 119, no. 11. Veda de 18 especies forestales).
- Müller-Starck, G. 1995. Protection of genetic variability in forest trees. *Forest Genetics* 2: 121-124.
- Murillo, O., Vílchez, B., y Rojas, E. 1993: Provenances of jaul (*Alnus acuminata* ssp *arguta* (Schlect.) Furlow) in Costa Rica. *FAO. Forest Genetic Resources* 21: 43-45.
- Murillo, O. 1997. Genetische Untersuchungen an natürlichen Populationen von *Alnus acuminata* ssp *arguta* (Schlectendal)Furlow in Costa Rica und Panamá. Editorial Cuvillier Göttingen. Göttingen, Alemania. 150 pp.
- Murillo, O. y Finkeldey, Reiner. 2000. Genetic diversity in natural populations of *Alnus acuminata* ssp *arguta* (Schlectendal) Furlow in Costa Rica and Panama. *Forest Genetics* 7 (2): 121-132
- Murillo, O., y Hattemer, H.H. 1997. Inheritance of isozyme variants of *Alnus acuminata* ssp. *arguta* (Schlectendal) Furlow. *Silvae Genetica* 46 (1): 51-55.

- Murillo, O., Vílchez, B., y Rojas, E. 1993. Provenances of jaúl (*Alnus acuminata* ssp *arguta* (Schlect.) Furlow) in Costa Rica. *FAO. Forest Genetic Resources. Bulletin* No. 21: 43-45.
- Murillo, O. y Rocha, O. 1999. Gene flow and geographic variation in natural populations of *Alnus acuminata* ssp *arguta* (Fagales: Betulaceae) in Costa Rica and Panama. *Rev. Biol. Trop.* **47(4)**: 739-753.
- Murillo, O.; Rodríguez, L.; Badilla, Y. & Obando, G. 2000. Aportes a la conservación de recursos genéticos forestales. *Kurú* N° 28: 4-5.
- Murillo, O.; Badilla, Y.; y Obando, G. 2001. Estrategia de mejoramiento genético para el Programa de Conservación y Mejoramiento Genético de Especies Forestales del ITCR/FUNDECOR, Costa Rica. En: III Simposio sobre Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina. 8-12 de octubre, 2001. Mérida, Venezuela.
- Murillo, O.; Obando, G.; Badilla, Y. y Azofeifa, M. 2003. Creación de GENFORES, una Cooperativa de Mejoramiento Genético Forestal en Costa Rica. En: IV Congreso Forestal Centroamericano. Panamá, Panamá. Febrero 2003.
- Murillo, O. 2005. Selecting populations for gene conservation purposes in forestry: a study case with *Alnus acuminata* in Costa Rica and Panama. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 14(1): 27-35.
- Murillo, O y Badilla, Y. 2009. Mejora genética de la teca: avances y tendencias en los últimos 10 años. En: I Congreso Internacional del Cultivo de teca. Universidad de Quevedo, Ecuador. 16-17 de setiembre, 2009.
- NAMKOONG, G. 1976. A multiple index selection strategy. *Silvae Genetica*. 25: 199-201
- Namkoong, G., Boyle, T., Gregorius, H.-R., Joly, H., Savolainen, O., Ratnam, W., and Young, A. 1996. Testing criteria and indicators for assessing the sustainability of forest management: Genetic Criteria and Indicators. CIFOR. Working Paper No. 10. July 1996. pp 12.
- Quirós, Kenner. Práctica de especialidad, Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Riggs, L.A. 1990. Conserving genetic resources on-site in forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*. 35: 45-68.
- Solano, Julio. 2004. Práctica de especialidad, Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Turok, J. and Hattemer, H.H. 1995. Gene resources in beech: which populations should be chosen?. In: MADSEN, S.F. (ed.) *Genetics and Silviculture of Beech*. Proc. 5th Beech Symposium of IUFRO. pp: 210-225. Forskningsserien Nr. 11. Danish Forest and Landscape Research Institute. Hørsholm.
- Vargas U., G. 1994. La vegetación de Costa Rica: su riqueza, diversidad y protección. Cuadernos para la Enseñanza de los Estudios Sociales. Escuela de Historia y Geografía. Universidad de Costa Rica. Editorial Guayacán. San José, Costa Rica. pp 93
- Ziehe, M., Gregorius, H.-R., Glock, H., Hattemer, H.H. and Herzog, S. 1989. Gene resources and gene conservation in forest trees: General concepts. In: Scholz, F., Gregorius, H.-R. and Rudin,

D. (eds.). *Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations*. Springer-Verlag. Heidelberg, New York, Tokyo. pp 173-186.

14. Apéndices

Listado general de especies forestales que están vedadas y/o se encuentran en algún grado de riesgo de desaparecer en Costa Rica (basado en Jiménez, 1998).

Familia	Especie	Nombre común	Grado de amenaza
Anacardiaceae	<i>Astronium graveolens</i> Jacq.	Ron ron	Especie amenazada.
Bignoniaceae	<i>Tabebuia guayacan</i> (Seem.) Hemsl	Corteza, Guayacán	Especie amenazada.
Boraginaceae	<i>Cordia gerascanthus</i> L.	Laurel negro	Especie en peligro de extinción. Vedada.
Caesalpinaceae	<i>Copaifera aromatica</i> Dwyer	Camíbar	Especie amenazada y con alto grado de pasar a la categoría de peligro de extinción.
	<i>Copaifera camibar</i> Poveda, Zamora & P.E. Sánchez	Camíbar	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Cynometra hemitomophylla</i> (Donn. Sm.) Britton & Rose	Cativo	Especie amenazada.
	<i>Mora oleifera</i> (Triana) Ducke	Guapinol negro	Endémica.
		Alcornoque de la costa pacífica	Especie amenazada.
		Chaperno de suampo	
	<i>Peltogyne purpurea</i> Pittier	Nazareno	Especie amenazada Incluida en la lista de plantas amenazadas y poco comunes de Costa Rica - UICN.
	<i>Prioria copaifera</i> Griseb.	Cativo	Especie amenazada.
	<i>Sclerolobium costaricense</i> Zamora & Poveda	Tostado	Especie en peligro de extinción. Vedada y endémica.
Caryocaraceae	<i>Tachigalia versicolor</i> Standl. & L.O. Williams	Alazán, Pellejo de toro, Plomo, Reseco	Especie amenazada Incluida en la lista de plantas amenazadas y poco comunes de Costa Rica - UICN.
	<i>Anthodiscus chocoensis</i> Prance	Ajo negro	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Caryocar costaricense</i> Donn. Sm.	Ajo, Ajillo, Manú, Plomillo	Especie amenazada. Incluida en apéndice II de CITES y en la lista de plantas amenazadas y poco comunes de Costa Rica- UICN.

Familia	Especie	Nombre común	Grado de amenaza
Papilionaceae	<i>Dalbergia retusa</i> Hemsl.	Cocobolo, Cocobola	Especie en peligro de extinción.
	<i>Dussia macropophyllata</i> (Donn. Sm.) Harms	Sangregao, Targuayugo, Paleta	Especie amenazada.
	<i>Hymenolobium mesoamericanum</i> Lima	Cola de pavo	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Myroxylon balsamum</i> (L.) Harms	Bálsamo, Chirracá, Sándalo	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Paramachaerium gruberi</i> Briz.	Sangrillo, Sangrillo colorado	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Platymiscium parviflorum</i> Benth.	Cristóbal, Ñambar	Especie en peligro de extinción. Vedada Incluida en apéndice II de CITES.
	<i>Platymiscium pinnatum</i> (Jacq.) Dugand	Cachimbo, Cristóbal, Quira	Especie en peligro de extinción. Vedada.
Humiriaceae	<i>Humiriastrum diguense</i> Cuatrec.	Chiricano, Chiricano alegre, Lorito, Nispero	Especie amenazada.
	<i>Vantanea barbourii</i> Standl.	Campano, Caracolillo, Chiricano, Chiricano triste	Especie amenazada.
Juglandaceae	<i>Oreomunnea pterocarpa</i> Oerst.	Gavilán, Gavilán blanco	Especie amenazada. Incluida en apéndice II de CITES.
Lauraceae	<i>Caryodaphnopsis burgeri</i> Zamora & Poveda	Cocobola, Quira	Especie en peligro de extinción. Vedada y endémica.
Lecythidaceae	<i>Couratari guianensis</i> Aubl.	Cachimbo, Copo hediondo	Especie amenazada.
	<i>Couratari scottmorii</i> Prance	Cachimbo, Copo hediondo, Matasano	Especie en peligro de extinción. Vedada Incluida en la lista de plantas amenazadas y poco comunes de Costa Rica- UICN.
	<i>Lecythis ampla</i> Miers.	Jícaro, Olla de mono	Especie amenazada e incluida en la lista de plantas amenazadas y poco comunes de Costa Rica- UICN.

Familia	Especie	Nombre común	Grado de amenaza
Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	Cedro, Cedro real	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Cedrela odorata</i> L.	Cedro Cedro amargo	Especie amenazada.
	<i>Cedrela salvadorensis</i> Standl.	Cedro	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Cedrela tonduzii</i> C.DC.	Cedro dulce	Especie amenazada
	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.	Caoba	Especie en peligro de extinción. Incluida en apéndice II CITES.
	<i>Swietenia macrophylla</i> King	Caoba	Especie en peligro de extinción. Vedada.
Mimosaceae	<i>Parkia pendula</i> Benth.	Tamarindo Tamarindo gigante	Especie en peligro de extinción. Vedada.
Olacaceae	<i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	Manú, Manú negro, Cuajada	Especie amenazada.
Podocarpaceae	<i>Podocarpus costaricensis</i> de Laub.	Cipresillo	Especie en peligro de extinción. Vedada.
	<i>Podocarpus guatemalensis</i> Standl.	Cipresillo, Pinillo	Especie en peligro de extinción. Vedada.
Sapotaceae	<i>Sideroxylon capiri</i> (A.DC.) Pittier	Tempisque Danto amarillo	Especie amenazada.
Vochysiaceae	<i>Qualea paraensis</i> Ducke	Areno, Masicarán	Especie amenazada.
Zygophyllaceae	<i>Guaiacum sanctum</i> L.	Guayacán real	Especie en peligro de extinción. Vedada. Incluida en apéndice II CITES.

Limitaciones: Este proyecto requiere de un trabajo mayor en colectas de campo, así como de mayor tiempo para el desarrollo de trabajos con el uso de los AFLP (marcadores genéticos), que se atrasaron con la incapacidad por maternidad de Fabiana Rojas y la instalación del nuevo laboratorio de genética molecular. La búsqueda y localización de sitios donde poder colectar nuevo germoplasma es una labor lenta, que requiere a veces, de varias visitas hasta lograr recolectar una muestra mínima por árbol. Por lo tanto, hemos conversado con la VIE para solicitar prorrogar la conclusión de este proyecto por 1 año más (hasta finales del 2010), con el fin de lograr cumplir con los objetivos de investigación en un mayor grado.

Debo señalar que este proyecto se diseñó en sus inicios con la previsión de participación de algún profesional forestal con experiencia en estas especies nativas de esta zona o con experiencia en bosque natural. Al no contarse con esta persona, ha sido un tanto lento el inicio con el nuevo conocimiento que ha implicado para nosotros sobre estas especies, sin embargo el proyecto ha logrado ir avanzando poco a poco. De manera ideal, sería poder incorporar parcialmente un profesional radicado en la zona, que pudiera aportarnos un $\frac{1}{2}$ tiempo para fortalecer el trabajo exploratorio y de futuras colectas de campo.